

睡眠調節と脳内ケトン体代謝の関連性について

近久 幸子

1. はじめに

ケトン体は飢餓や激しい運動、高脂肪食摂取や糖尿病などによる糖利用障害、糖によるエネルギー供給が追いつかない場合に、主に肝臓において脂肪酸から産生され、脳や末梢組織のエネルギー源として供給される。体内でのケトン体の蓄積はケトアシドーシスの要因となることから、ケトン体は負のイメージを持たれることが多い。しかし近年、ケトン体には、神経保護作用や抗酸化ストレス作用などの多様な働きを持つことが明らかとなっている。それらの中で、我々は、ケトン体が睡眠の深さや眠気の新たな調節因子になることを見いだした。本稿では、ケトン体の合成・代謝・作用のメカニズムについて概説するとともに、ケトン体合成に関わる因子および脳内ケトン体代謝が睡眠調節にどのような役割を果たすかについて、筆者らのデータも交えながら紹介したい。

2. ケトン体の合成と利用

ケトン体には β -ヒドロキシ酪酸・アセト酢酸・アセトンの3種類があり、 β -ヒドロキシ酪酸とアセト酢酸がエネルギー基質として用いられる。ケトン体は主に肝細胞のミトコンドリアで合成されるが、腎臓上皮や腸細胞、脳のアストロサイト（神経膠細胞）でも合成される。ケトン体が合成される際、まず脂肪酸がミトコンドリアにおいて β 酸化され、アセチルCoA（acetyl-CoA）と変換される。次に、HMG-CoA シンターゼ（HMG-CoA synthase：HMGCS2）という酵素によって、アセチルCoAとアセトアセチルCoA（acetoacetyl-CoA）が縮合して、HMG-CoAが合成される

徳島大学大学院医歯薬学研究部統合生理学分野（〒770-8503 徳島県徳島市蔵本町3-18-15）

Relationship between sleep regulation and ketone bodies in the brain

Sachiko Chikahisa (Department of Integrative Physiology, Institute of Biomedical Sciences, Tokushima University Graduate School, 3-18-15 Kuramoto-cho, Tokushima 770-8503, Japan)
本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2021.930243

© 2021 公益社団法人日本生化学会

(図1)．HMG-CoAは、HMG-CoA リアーゼ（HMG-CoA lyase：HMGCL）によって、ケトン体であるアセト酢酸に変換される。大部分のアセト酢酸は、 β -ヒドロキシ酪酸脱水素酵素（3-hydroxybutyrate dehydrogenase：BDH）によって β -ヒドロキシ酪酸に変換される。標的組織に取り込まれた β -ヒドロキシ酪酸はBDHによって再度アセト酢酸に変換される。アセト酢酸は、スクシニルCoA:3-ケト酸CoAトランスフェラーゼ（succinyl-CoA:3-ketoacid-coenzyme A transferase：SCOT）によってアセトアセチルCoAに変換された後アセチルCoAとなり、TCA回路でATP合成に用いられる。ケトン体合成のためのアセチルCoAの供給源は脂肪酸が主であるが、慢性的な摂餌制限や糖尿病性ケトアシドーシスなどでは、ロイシンやリシンなどケト原性アミノ酸の異化作用から供給されるアセチルCoAもケトン体合成に利用される^{1,2)}。

3. ケトン体合成の調節因子PPAR α と睡眠調節

ケトン体合成を調節する代表的な転写因子の一つに核内受容体であるペルオキシソーム増殖因子活性化受容体 α （peroxisome proliferator-activated receptor- α ：PPAR α ）がある³⁾。PPAR α は、肝臓・骨格筋・心臓・腎臓・脳などに発

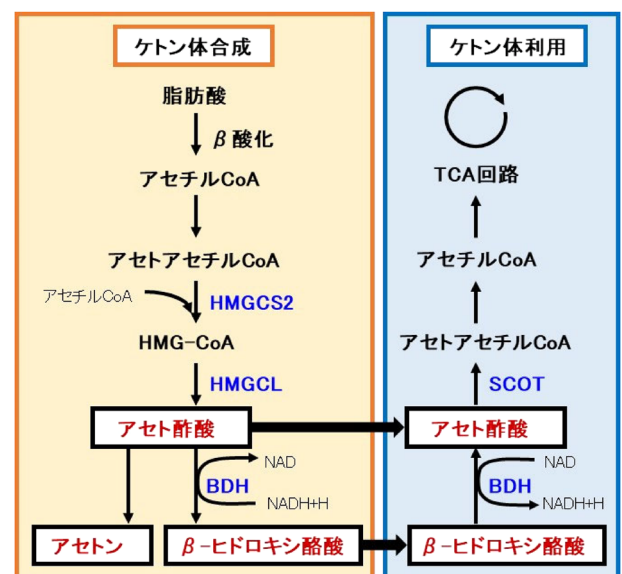


図1 ケトン体代謝の概要

現しており、内因性リガンド（遊離脂肪酸など）および人工リガンド（フィブラート系薬剤など）と結合すると、レチノイドX受容体（retinoid X receptor：RXR）とヘテロ二量体を形成し、プロモーター領域にあるPPAR応答配列（PPAR response elements：PPRE）に結合する。その結果、ケトン体合成の律速酵素であるHMGCS2をはじめとした、脂肪酸の輸送や取り込み、ケトン体合成に関与する遺伝子群の転写が活性化される。

PPAR α は主に絶食時に活性化し、脂肪酸酸化およびケトン体産生を亢進させる。そのためPPAR α 欠損マウスを絶食状態にすると、野生型マウスと比較して、血中遊離脂肪酸濃度の増加と血中ケトン体濃度の低下が認められる。我々の実験においても、野生型マウスでは絶食によって肝臓や脳（大脳皮質や視床下部）におけるHMGCS2の遺伝子発現や血中ケトン体濃度が大きく上昇したが、PPAR α 欠損マウスではHMGCS2発現の増加は小さく、血中ケトン体濃度も野生型マウスより低下していた⁴⁾。我々は以前、ビタミンAの除去食を摂取したマウスは、ノンレム睡眠時の脳波の徐波活動（slow-wave activity：SWA, 0.5～4Hzの徐波成分が占める割合であり、睡眠の深さや眠気の指標として用いられる）が減弱することを見いだしている⁵⁾。ビタミンAの主要形態であるレチノールの代謝産物であるレチノイン酸は、PPARsと二量体を形成するRXRのリガンドとしても作用する。そこで我々は、PPAR α にも何らかの睡眠調節作用があるのではないかと考えた。

まず、絶食条件下におけるPPAR α 欠損マウスの覚醒・睡眠量を計測したところ、絶食時間が長くなるにつれ、野生型マウスよりも覚醒量が減少し、ノンレム睡眠量が増大した⁴⁾。絶食条件下において、ケトン体は心臓のエネルギー源としても働くため、睡眠計測と併せて血圧・心拍数を測定したところ、絶食による血圧・心拍数の低下が野生型マウスよりもPPAR α 欠損マウスの方がより顕著であった。これらの結果から、PPAR α は、絶食条件下などエネルギー供給が不足した際、おそらくケトン体を介して、心機能の維持とともに覚醒状態の維持に必須であることが示された。

次に、PPAR α のアゴニストであるベザフィブラートを投与すると、絶食条件下でなくとも睡眠のリズムや深さが変化した。我々の実験では、ベザフィブラートを粉末飼料に混合した餌をマウスに2週間摂取させると、ケトン体の一つであるアセト酢酸の血中濃度が大幅に上昇した⁶⁾。これに伴い、ベザフィブラートを摂取したマウスは、睡眠・覚醒や体温のリズム（体内位相）が2～3時間ほど前進した⁶⁾。さらに、ベザフィブラートを摂取したマウスは、ノンレム睡眠時SWAが24時間を通して増強していた。これらのことから、ケトン体合成の調節因子であるPPAR α は、眠気や睡眠深度の制御にも寄与している可能性が示唆された。

4. 代謝センサー AMPKと睡眠調節

飢餓状態においてATP産生を誘導する重要な酵素として、AMPキナーゼ（AMP-activated protein kinase：AMPK）がある。AMPKは「代謝センサー」と呼ばれており、細胞内のAMP/ATP比が上昇する（エネルギー不足を表す）ことで活性化し、種々のイオンチャネル活性や遺伝子発現を調節し、糖の取り込みや脂肪酸の β 酸化を促進させてATPレベルを回復させる。一方、栄養過剰時には、セリン／トレオニンキナーゼであるmTOR（mammalian target of rapamycin）の関連経路が活性化される。空腹時のPPAR α を介するケトン体合成には肝臓におけるmTORCの阻害が必要とされているが⁷⁾、mTORC1の抑制は生理学的にはAMPKによって引き起こされるので、AMPKとPPAR α は協調してケトン体合成を調節していることになる。

AMPKによる睡眠調節に関して、我々はこれまでの実験において、マウスに6時間の断眠を行い睡眠不足状態にすると、視床下部（視床下部全域：Bregma -0.5mm～+3.0mmを採取して解析）のAMPKが活性化されることを見いだした⁸⁾。睡眠不足直後は、マウスもヒトも眠気の増大と深い睡眠（ノンレム睡眠中のSWAの増大）が認められ、数時間のリカバリー睡眠を設けると回復する。我々の実験においても、マウスに6時間の断眠を行った直後は、AMPKの活性化およびAMPKシグナリングの上流にあるCaMKK β （calmodulin dependent protein kinase kinase β ）のmRNA発現が視床下部全域を含む領域において増大したが、6時間のリカバリー睡眠後にはこれらはベースラインのレベルにまで戻っていた。一方、AMPKの阻害薬をマウスの脳室内に投与するとノンレム睡眠中のSWAが減弱し、活性化薬を投与するとSWAが増強した⁸⁾。栄養過剰時に活性化する視床下部のmTORCが断眠によってどのように変化するかについては現段階では不明であるが、少なくとも我々の研究から、睡眠不足になるとAMPKシグナリングが活性化することが明らかとなり、PPAR α 活性やケトン体合成の促進を介して、睡眠不足後の眠気の増大や睡眠深度の増強を引き起こしている可能性が示された。そこで次に、ケトン体そのものの睡眠調節への関与について検討することとした。

5. 脳内ケトン体による睡眠調節

まずはじめに、上記と同様、野生型マウスに6時間の断眠を行い睡眠不足状態にした上で、血中ケトン体濃度および肝臓・脳におけるケトン体合成に関わる遺伝子発現を測定した。その結果、断眠直後には血中ケトン体濃度（アセト酢酸・ β -ヒドロキシ酪酸）の大幅な上昇と、視床下部全域・大脳皮質におけるPPAR α やHMGCS2の遺伝子発現の

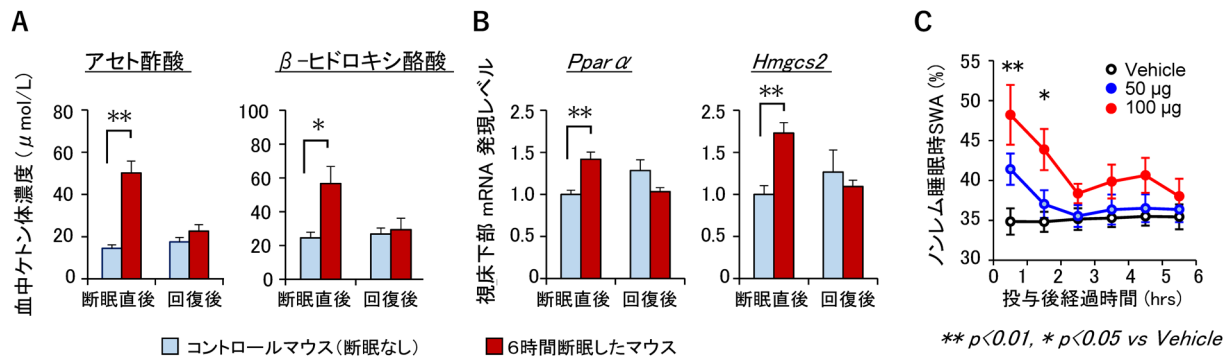


図2 断眠によるケトン体変化およびケトン体投与による睡眠変化 (文献10より改変引用)

(A) 断眠後の血中ケトン体濃度. (B) 断眠後の視床下部 (視床下部全域: Bregma $-0.5\text{ mm} \sim +3.0\text{ mm}$ を採取して解析) におけるケトン体合成関連遺伝子発現. (C) アセト酢酸の脳室内投与によるノンレム睡眠時SWAの増強.

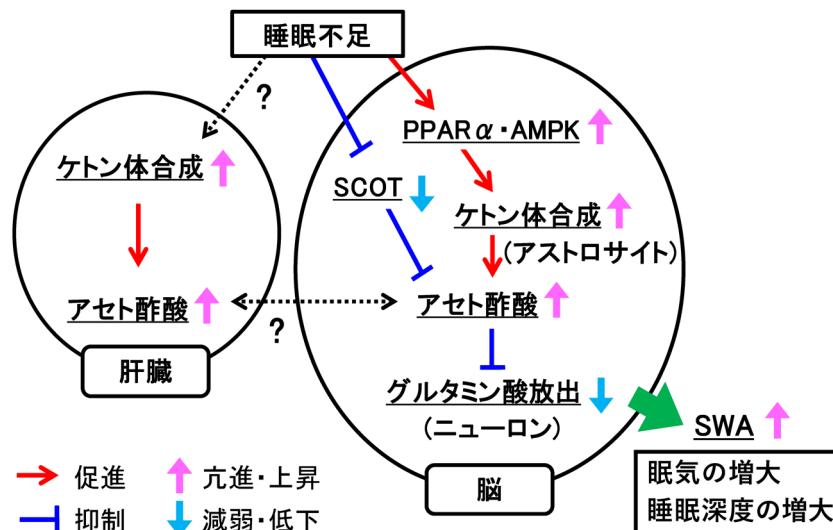


図3 睡眠調節におけるケトン体の作用 (文献10より改変引用)

睡眠不足は大脳皮質や視床下部の全域を含む領域のアストロサイトにおいて、PPARαやAMPKの活性化を介してケトン体合成を促進する。その結果、脳内のアセト酢酸濃度が上昇し、覚醒系のグルタミン酸放出を抑制することで、SWAの増強 (眠気・睡眠深度の増大) を引き起こす。現段階では、肝臓におけるケトン体合成と睡眠調節との関連は不明である。

増大およびケトン体分解酵素SCOTの発現低下が認められた (図2A, B)。肝臓のHMGCS2の遺伝子発現は増大傾向にあったものの、脳ほど顕著な変化ではなかった。そこで、断眠後の脳におけるケトン体合成の亢進 (ケトン体濃度の増大) が眠気や睡眠深度の増大に関与していると考え、ケトン体をマウスの脳室内に直接投与し、睡眠量とノンレム睡眠中のSWAを測定した。その結果、睡眠量には大きな変化は認められなかったものの、アセト酢酸の脳室内投与により、ノンレム睡眠中のSWAの増強が認められた (図2C)。

アセト酢酸は小胞型グルタミン酸トランスポーター (vesicular glutamate transporter: VGLUT) に結合してVGLUTの活性を阻害し、グルタミン酸の放出を減少させることで神経抑制を引き起こす⁹⁾。グルタミン酸は代表的な覚醒系

の神経伝達物質であるため、アセト酢酸の脳室内投与でグルタミン酸放出が抑制されれば、その後の睡眠におけるSWAの増大につながると考えられる。そこで、マイクロダイアリス法を用いて、ケトン体投与後の脳内のグルタミン酸放出量について測定したところ、アセト酢酸の脳室内投与は、脳内のグルタミン酸放出を抑制することが明らかとなった¹⁰⁾。これらのことから、睡眠不足になると、視床下部全域や大脳皮質でHMGCS2の発現が増大して脳内ケトン体合成が高まり、増加したアセト酢酸がVGLUTに結合することによって、覚醒系のグルタミン酸放出が抑制され、眠気や睡眠深度の増強が引き起こされと考えられる (図3)。このことは、脳内ケトン体代謝が睡眠ホメオスタシスと深く関わっていることを強く示している。

6. おわりに

良質な睡眠を夜間にとることができず、日中に眠気を感じて日常生活に支障を来す不眠症や、仕事や育児などさまざまな事情で慢性的な睡眠不足に陥る人は多い。眠気や睡眠深度の調節機序を明らかにすることは、睡眠に関わる種々の悩みや疾患に対処する上で、非常に重要である。ケトン体には神経保護作用があることが古くから知られているが、そのメカニズムとして、上述のVGLUT、アデノシンA1受容体¹¹⁾、ATP感受性カリウムチャネル¹²⁾、アストロサイト-ニューロン乳酸シャトルなどを介して¹³⁾、神経抑制作用を発揮することが近年明らかになりつつある。ケトン体による睡眠調節への直接作用については我々の報告が初めてであるが、アデノシンA1受容体や乳酸についてはこれまでも睡眠調節との関連性が指摘されていたことから、これらの因子とケトン体が協同的に睡眠調節を行っている可能性も十分に考えられる。また、ケトン体の新たな作用として、ヒストン脱アセチル化酵素の活性阻害によって抗酸化ストレス作用を持つことや¹⁴⁾、Gタンパク質共役受容体(HCAR2/GPR109AおよびFFAR3/GPR41、GPR43)と結合して固有のシグナル伝達能力を有することが報告されている。例えば、 β -ヒドロキシ酪酸によってGPR109Aが活性化すると、脂肪細胞の脂肪分解が低下する¹⁵⁾。一方、交感神経節に発現するGPR41に β -ヒドロキシ酪酸が結合すると交感神経活動が抑制される¹⁶⁾。さらに絶食などケトン体合成が亢進する環境下では、アセト酢酸がGPR43と結合することで、血中のリポタンパク質リパーゼの活性が高まり、中性脂肪の分解を促進して脂肪の消費が亢進することが明らかとなっている¹⁷⁾。今後、これらシグナル伝達分子としてのケトン体の睡眠調節における新たな役割および分子機序が解明されることで、睡眠障害をはじめとした睡眠にまつわる種々の問題が解決されることが期待される。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多くのご助言を賜りました勢井宏義教授(徳島大学大学院医歯薬学研究部統合生理学分野)と同分野スタッフの皆様に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Thomas, L.K., Ittmann, M., & Cooper, C. (1982) The role of leucine in ketogenesis in starved rats. *Biochem. J.*, **204**, 399–403.
- 2) Liebich, H.M. & Forst, C. (1984) Hydroxycarboxylic and oxocarboxylic acids in urine: Products from branched-chain amino acid degradation and from ketogenesis. *J. Chromatogr. A*, **309**, 225–242.
- 3) Grabacka, M., Pierzchalska, M., Dean, M., & Reiss, K. (2016). Regulation of ketone body metabolism and the role of PPAR α . *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 2093.
- 4) Kondo, Y., Chikahisa, S., Shiuchi, T., Shimizu, N., Tanioka, D., Uguisu, H., & Sei, H. (2020) Sleep profile during fasting in PPAR- α knockout mice. *Physiol. Behav.*, **214**, 112760.
- 5) Kitaoka, K., Hattori, A., Chikahisa, S., Miyamoto, K., Nakaya, Y., & Sei, H. (2007) Vitamin A deficiency induces a decrease in EEG delta power during sleep in mice. *Brain Res.*, **1150**, 121–130.
- 6) Chikahisa, S., Tominaga, K., Kawai, T., Kitaoka, K., Oishi, K., Ishida, N., Rokutan, K., & Sei, H. (2008) Bezafibrate, a peroxisome proliferator-activated receptors agonist, decreases body temperature and enhances electroencephalogram delta-oscillation during sleep in mice. *Endocrinology*, **149**, 5262–5271.
- 7) Sengupta, S., Peterson, T.R., Laplante, M., Oh, S., & Sabatini, D.M. (2010) mTORC1 controls fasting-induced ketogenesis and its modulation by ageing. *Nature*, **468**, 1100–1104.
- 8) Chikahisa, S., Fujiki, N., Kitaoka, K., Shimizu, N., & Sei, H. (2009) Central AMPK contributes to sleep homeostasis in mice. *Neuropharmacology*, **57**, 369–374.
- 9) Juge, N., Gray, J.A., Omote, H., Miyaji, T., Inoue, T., Hara, C., Uneyama, H., Edwards, R.H., Nicoll, R.A., & Moriyama, Y. (2010) Metabolic control of vesicular glutamate transport and release. *Neuron*, **68**, 99–112.
- 10) Chikahisa, S., Shimizu, N., Shiuchi, T., & Sei, H. (2014) Ketone body metabolism and sleep homeostasis in mice. *Neuropharmacology*, **79**, 399–404.
- 11) Masino, S.A., Li, T., Theofilas, P., Sandau, U.S., Ruskin, D.N., Fredholm, B.B., Geiger, J.D., Aronica, E., & Boison, D. (2011) A ketogenic diet suppresses seizures in mice through adenosine A₁ receptors. *J. Clin. Invest.*, **121**, 2679–2683.
- 12) Ma, W., Berg, J., & Yellen, G. (2007) Ketogenic diet metabolites reduce firing in central neurons by opening K(ATP) channels. *J. Neurosci.*, **27**, 3618–3625.
- 13) Sada, N., Lee, S., Katsu, T., Otsuki, T., & Inoue, T. (2015) Epilepsy treatment. Targeting LDH enzymes with a stiripentol analog to treat epilepsy. *Science*, **347**, 1362–1367.
- 14) Shimazu, T., Hirschey, M.D., Newman, J., He, W., Shirakawa, K., Le Moan, N., Grueter, C.A., Lim, H., Saunders, L.R., Stevens, R.D., et al. (2013) Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science*, **339**, 211–214.
- 15) Youm, Y.H., Nguyen, K.Y., Grant, R.W., Goldberg, E.L., Bodogai, M., Kim, D., D'Agostino, D., Planavsky, N., Lupfer, C., Kanneganti, T.D., et al. (2015) The ketone metabolite β -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nat. Med.*, **21**, 263–269.
- 16) Kimura, I., Inoue, D., Maeda, T., Hara, T., Ichimura, A., Miyachi, S., Kobayashi, M., Hirasawa, A., & Tsujimoto, G. (2011) Short-chain fatty acids and ketones directly regulate sympathetic nervous system via G protein-coupled receptor 41 (GPR41). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 8030–8035.
- 17) Miyamoto, J., Ohue-Kitano, R., Mukouyama, H., Nishida, A., Watanabe, K., Igarashi, M., Irie, J., Tsujimoto, G., Satoh-Asahara, N., Itoh, H., et al. (2019) Ketone body receptor GPR43 regulates lipid metabolism under ketogenic conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **116**, 23813–23821.

著者寸描**●近久 幸子**（ちかひさ さちこ）

徳島大学大学院医歯薬学研究部統合生理学分野講師，博士（医学）。

■略歴 2001年徳島大学総合科学部卒業，03年同大学院人間・自然環境研究科修士課程修了，07年同大学院医学研究科博士課程修了，同年同大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・助教，16年より現職。

■研究テーマと抱負 睡眠障害によって代謝性疾患のリスクが上昇するメカニズムを解明し，治療や予防に結びつけたい。

■ウェブサイト <https://integphysiol.jimdofree.com/>

■趣味 読書，料理。